

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		脂質非対称センシング機構の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Elucidation of the sensing mechanism of lipid asymmetry			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓) オバラ	名) ケイスケ	研究期間 B	2013 ~ 2014 年
	漢字 CB	小原	圭介	報告年度 YR	2015 年
	ローマ字 CZ	Obara	Keisuke	研究機関名	北海道大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		北海道大学大学院薬学研究院・助教			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめて下さい。) 本研究では、細胞膜の脂質非対称性の状態を感知し、細胞内にシグナルを発するセンサータンパク質 Rim21 に焦点を当て、Rim21 による脂質非対称センシングの分子機構の解明を目指した。 まず、Rim21 の C 末端細胞質領域 (Rim21C) に存在することが研究代表者によって示唆されていたセンサーモチーフの絞り込みを行った。まず、Rim21C に荷電アミノ酸残基が豊富に存在することに注目し、荷電アミノ酸残基に対するシステムティックな変異解析を行った。その結果、Rim21C 前半部に存在する 3 つの Glu 残基が脂質非対称の感知に直接的に関与すること、およびその Glu クラスターは Rim21C が細胞膜から解離する反発力を生み出していることを見出した。さらに、その近傍に存在する Arg Lys 残基は、Glu クラスターとは反対に細胞膜への親和性を生み出していることを明らかにした。これらのことから、Rim21 は Rim21C 内の近接する荷電アミノ酸残基クラスター同士のカウンターアクションのバランスによって脂質非対称センシングを行っている様子が明らかになってきた。現在は、この両クラスターがセンサーモチーフであると考えている。この様に、センサーモチーフの絞り込みにはほぼ成功し、センシング機構の解明に大きく迫る成果をあげることが出来た。ここまでの内容をまとめ、<i>J Biol Chem</i> 誌に投稿し、現在はリバイスの状態である。 Rim21C が相互作用する細胞膜内層の脂質分子種の探索も行った。Rim21C の組換えタンパク質を作製し、<i>in vitro</i> 脂質結合実験を行ったところ、Rim21C が PS, PI, PA, PI(4,5)P2 の 4 種に結合することを見出した。これらは全て負電荷を有し、細胞膜内層に濃縮されている脂質である。興味深いことに、この結合は PE を共存させることにより強まった。プロトンアクセプターと成り得るアミノ基を有する PE の共存により、これらの脂質の脱プロトン化が促進し、負電荷が強まったためと考えられる。PE もほとんどが細胞膜内層に存在する脂質であり、興味深い。この様に Rim21C が相互作用する脂質についても知見が得られた。 今後は、脂質との相互作用に伴って起こり得る Rim21C の構造変化を明らかにしたい。					
キーワード FA	脂質非対称	細胞膜	センサー	酵母	

(以下は記入しないで下さい。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入して下さい。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

In this study, we performed a focused analysis of Rim21 that senses the state of plasma membrane lipid asymmetry.

To identify the “sensor motif” that has been suggested to exist within the C-terminal cytosolic region of Rim21 (Rim21C), we performed a systematic mutational analysis of Rim21C. As a result, we found that three consecutive Glu residues were essential for Rim21 function and dissociation of Rim21C from the plasma membrane in response to changes in lipid asymmetry. In contrast, positively charged residues, Arg Lys, adjacent to the Glu cluster were required for Rim21C to associate with the membrane. From these results, we propose that the Glu cluster and Arg Lys motif constitute the sensor motif and that altered lipid asymmetry is sensed by the balance between their counteracting effects.

In summary, we succeeded in identifying the sensor motif, which is an important progress toward elucidation of sensing mechanism of lipid asymmetry (paper in revision. *J Biol Chem*).

We also searched for lipid species that could interact with Rim21C. Recombinant Rim21C bound to PS, PI, PA, PI(4,5)P2 in lipid overlay assay. It is noteworthy that these lipids are mostly confined to the cytosolic leaflet of the plasma membrane *in vivo*.